

6-й СЪЕЗД ИНФЕКЦИОНИСТОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

палительной патологией челюстно-лицевой области составил 45,6% (95% ДИ: 31,3—59,9, min — 2,6, max — 84,6), в группе пациентов с острыми гнойными тонзиллитами — 42,8% (95% ДИ: 29,7—55,9, min — 0,92, max — 94,3), в контрольной группе — 10,4% (95% ДИ: 0—23,5, min — 0, max — 68,6).

Средний уровень и диапазон разброса значений бета-лактамазной активности ротовой жидкости пациентов с хирургической и терапевтической бактериальной патологией челюстно-лицевой области практически не различались (U-тест Манна-Уитни, $p=0,77$), в то время как в контрольной группе практически здоровых лиц данный уровень оказался существенно более низким, чем в обеих опытных группах (U-тест Манна-Уитни, $p<0,0001$).

Бактериологическое исследование показало рост *S. aureus* в 72 образцах слюны из 110 протестированных (65,5%); при этом устойчивость к тем или иным антибиотикам бета-лактаминового ряда была выявлена у 64 изолятов (88,9%), а в 14 случаях имела место устойчивость к оксациллину (19,4%), т.е. указанные стафилококки являлись MRSA. В большинстве соответствующих проб слюны наблюдалась более или менее выраженная бета-лактамазная активность, но значимая корреляция между уровнем данной активности и фактом устойчивости клинических изолятов *S. aureus* к бета-лактамам отсутствовала, что указывает на 1) высокую распространенность неферментативных механизмов устойчивости к бета-лактамам среди грам-положительных кокков и 2) невозможность учесть роль ко-патогенной микрофлоры в суммарной бета-лактамазной активности слюны при использовании рутинных методов бактериологического исследования.

В качестве маркеров клинической неэффективности антибиотиков бета-лактаминового ряда использовались следующие косвенные показатели: продолжительность госпитализации, количество одновременно назначенных антибиотиков, число замен антибиотиков, факт смены бета-лактамов на антибиотики из других фармакологических групп, факт назначения резервных антибиотиков из группы бета-лактамов и других фармакологических групп.

ROC-анализ показал, что бета-лактамазная активность ротовой жидкости, равная или превышающая 45%, указывает на высокую вероятность клинической неэффективности пенициллинов (включая аминопенициллины) и цефалоспоринов 1—3 поколений в лечении соответствующих пациентов с чувствительностью 75,0% (95% ДИ: 42,8—94,2) и специфичностью 89,6% (95% ДИ: 77,3—96,5) ($AUC=0,866$; 95% ДИ: 0,754—0,940, $p<0,0001$). Область значений активности ≈ 35 —45% соответствует т.н. «серой зоне», где решение о замене антибактериальной терапии должно приниматься индивидуально с учетом ее наблюдаемой эффективности и динамики заболевания.

Литература

1. Торосян, Т.А. Бета-лактамазная активность ротовой жидкости и ее возможное клиническое значение / Торосян Т.А., Жильцов И.В., Семенов В.М. // «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации». — Витебск, 2011. — С.88—89.
2. Торосян, Т.А. Бета-лактамазная активность ротовой жидкости как прогностический фактор эффективности антибактериальной терапии / Т.А. Торосян, И.В. Жильцов, В.М. Семенов, С.А. Кабанова // «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации». — Витебск, 2012. — С.194—196.
3. Gaetti-Jardim, E.C. Antimicrobial resistance of aerobes and facultative anaerobes isolated from the oral cavity / E.C. Gaetti-Jardim, A.C. Marqueti, L.P. Faverani, E.Jr. Gaetti-Jardim // J. Appl. Oral. Sci. — 2010, Dec. — Vol. 18 (6). — P.551—559.
4. Жильцов, И.В. Тест-система «БиоЛактам» — эффективное средство для выявления бактерий, устойчивых к антибиотикам бета-лактаминового ряда / Жильцов И.В., Веремей И.С., Семенов В.М., Небосько Е.Л. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. — 2011. — Том 10, №4. — С.98—104.
5. Callaghan, H.C. Novel method for detection of b-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate / H.C. Callaghan [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. — 1972. — Vol. 1 (4). — P.283—288.

ПРИРОДА БЕТА-ЛАКТАМАЗНОЙ АКТИВНОСТИ СЛЮНЫ

Жильцов И.В., Семенов В.М., Торосян Т.А., Егоров С.К., Прудников А.Р.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Беларусь

Как известно, в ротовой полости обитает большое количество (более 200 видов) разнообразных микроорганизмов — патогенных, условно-патогенных и непатогенных. Многие из них способны вызывать гнойно-воспалительные поражения челюстно-лицевой области. Ротовая микрофлора первой принимает на себя удар любых антибактериальных препаратов, поступающих в организм человека через рот (включая антибиотики, содержащиеся в пище). Ввиду этого, многие представители ротовой микрофлоры обладают устойчивостью к антибиотикам, нередко — сразу к нескольким. Основной группой антибактериальных препаратов, наиболее часто используемых в клинической практике, являются бета-лактамы, которые в сумме составляют до 80% от всех применяемых антибиотиков. Соответственно, устойчивость микроорганизмов ротовой полости к антибиотикам бета-лактаминового ряда имеет наибольшее клиническое значение. Предполагается что данная устойчивость в первую очередь опосредуется бактериальными бета-лактамазами. Существует феномен продукции бета-лактамаз непатогенной флорой ротовой полости, которая, таким образом, защищает патогенную флору от воздействия бета-лактамов (т.н. «ко-патогенная флора»); при этом патогенные микроорганизмы могут сами не продуцировать бета-лактамазы. Следует также принять во внимание недавно открытый и описанный нами феномен т.н. «биологической» устойчивости к бе-

та-лактамам антибиотикам за счет наличия бета-лактамазной активности у некоторых эндогенных факторов человеческого организма, прежде всего — у сывороточного альбумина. Известно, что альбумин — один из основных белков ротовой жидкости, причем его концентрация может существенно расти при воспалительном процессе либо при кровоточивости слизистой полости рта. Вклад альбумина в общий уровень бета-лактамазной активности ротовой жидкости никогда не изучался.

Уточнение природы бета-лактамазной активности ротовой жидкости позволило бы целенаправленно бороться с обусловленной ею неэффективностью бета-лактамов в лечении гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области.

Цель исследования: уточнить природу бета-лактамазной активности ротовой жидкости, оценить вклад эндогенных факторов макроорганизма в указанную активность.

Материалы и методы. Объектом для исследования послужили образцы ротовой жидкости пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области, собранные в 2012—13 гг. на базе отделения челюстно-лицевой хирургии УЗ «ВОКБ №1». Для выявления природы бета-лактамазной активности ротовой жидкости были выполнены следующие эксперименты:

1. Фракционирование образцов ротовой жидкости ($n=4$) при помощи препаративного диск-электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле. По завершении электрофореза столбики геля разрезались на равные фрагменты длиной 0,5 см, после чего изолированно определялась бета-лактамазная активность каждого из них; расположение белковых фракций выявлялось путем окраски контрольных столбиков геля красителем Кумасси R250.

2. Обработка образцов ротовой жидкости с наиболее выраженной бета-лактамазной активностью ($n=10$) взвесью гранул голубой сефарозы (реактив, 1 мг которого избирательно связывает до 10,5 мг человеческого сывороточного альбумина, практически не взаимодействуя с другими белками). Данный эксперимент позволяет оценить долю бета-лактамазной активности ротовой жидкости, опосредованную сывороточным альбумином.

3. Ингибирование бета-лактамазной активности образцов ротовой жидкости ($n=16$) раствором тазобактама (ингибитора бактериальных бета-лактамаз класса А) в конечной концентрации 5 мг/мл).

Определение уровня бета-лактамазной активности ротовой жидкости выполнялось путем спектрофотометрической регистрации распада антибиотика цефалоспоринового ряда нитроцефина, для чего использовалась созданная нами тест-система «Био-Лактам».

Результаты.

1. Фракционирование образцов ротовой жидкости с изолированным определением бета-лактамазной активности белковых фракций показало, что максимум указанной активности соответствовал белкам, молекулярная масса которых приблизительно в 2 раза меньше молекулярной массы альбумина (≈ 65 кДа), а концентрация в слюне — на несколько порядков ниже. Молекулярная масса бактериальных бета-лактамаз соответствует указанному диапазону

($\approx 31,5$ кДа). Сывороточный альбумин присутствовал в слюне в значительной концентрации и вносил свой вклад в ее бета-лактамазную активность, но указанный вклад не превышал 20—40% суммарного уровня активности.

2. Обработка образцов ротовой жидкости взвесью гранул голубой сефарозы показала, что в 4 пробах из 10 бета-лактамазная активность практически не изменилась после обработки, а в оставшихся 6 пробах — снизилась в среднем на $19,9 \pm 4,4\%$. Таким образом, бета-лактамазная активность ротовой жидкости может быть обусловлена человеческим сывороточным альбумином не более чем на 20%, некоторые же пробы вовсе не содержат альбумина, что хорошо согласуется с результатами, полученными в предыдущем эксперименте.

3. Ингибирование бета-лактамазной активности проб ротовой жидкости раствором тазобактама в итоговой концентрации 5 мг/мл показало, что указанная активность после ингибирования снизилась в среднем на $83,2 \pm 21,6\%$. Таким образом, очевидно, что все эндогенные факторы организма, включая сывороточный альбумин, обуславливают в среднем около 20% общего уровня бета-лактамазной активности ротовой жидкости; остальные 80% приходятся на бактериальные бета-лактамазы, причем определенно класса А, поскольку тазобактам не способен взаимодействовать с другими (В, С, D) классами бета-лактамаз. При этом следует отметить, что в 10 исследованных пробах из 16 (62,5%) бета-лактамазная активность в результате ингибирования снизилась практически до нуля (уровень снижения составил 95—100% от исходного), подтверждая, что бета-лактамазная активность указанных проб связана исключительно с наличием бактериальных бета-лактамаз класса А. Все пробы ротовой жидкости, в которых часть бета-лактамазной активности была обусловлена эндогенными факторами, имели явные примеси крови и/или воспалительного экссудата.

Заключение.

1. Бета-лактамазная активность ротовой жидкости обусловлена на $\approx 80\%$ бактериальными бета-лактамазами (преимущественно — класса А), и на $\approx 20\%$ — эндогенными факторами человеческого организма (преимущественно — сывороточным альбумином);

2. В большинстве (не менее 2/3) проб ротовой жидкости бета-лактамазная активность обусловлена исключительно присутствием бактериальных бета-лактамаз класса А;

3. Наиболее обоснованным способом преодоления высокой бета-лактамазной активности ротовой жидкости, существенно снижающей эффективность антибиотиков бета-лактаминового ряда при лечении гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области, является использование ингибитор-защищенных бета-лактамов;

4. Тест-система «БиоЛактам» регистрирует суммарный уровень бета-лактамазной активности ротовой жидкости, что позволяет прогнозировать неэффективность терапии бета-лактаминами препаратами без обязательного этапа выделения чистой культуры возбудителя заболевания, а также игнорируя наличие ко-патогенной флоры.